Open Access
DOI:10.3724/zdxbyxb-2025-0929

炎症性疾病

·专题报道·

双歧杆菌三联活菌改善热射病大鼠热耐受性及全身炎症损伤的机制研究

谢江波[1]，薛正彪[1]，丁舒畅[2]，温佩珊[2]，温燕华[3]

1. 赣南医科大学第一附属医院重症医学科，江西 赣州 341000
2. 赣南医科大学第一临床医学院，江西 赣州 341000
3. 赣南医科大学第一附属医院输血科，江西 赣州 341000

［摘　要］ **目的**：探究双歧杆菌三联活菌（LCBLE）对热射病大鼠热耐受性的改善作用及对全身炎症损伤的影响，并初步阐明其可能的作用机制。**方法**：大鼠随机分为空白对照组、LCBLE对照组、模型对照组和LCBLE治疗组。LCBLE对照组和LCBLE治疗组于热射病造模前连续7 d灌胃LCBLE，空白对照组和模型对照组予等体积生理盐水；第8天模型对照组和LCBLE治疗组构建热射病模型。监测各组大鼠核心体温、体重及存活率；采用酶联免疫吸附试验检测血清炎症因子和肠型脂肪酸结合蛋白（I-FABP）、乳酸比色法检测*D*-乳酸、鲎试验法检测内毒素、苏木精–伊红染色观察肠道组织病理损伤形态并评分、免疫荧光染色法检测结肠组织中紧密连接蛋白和上皮钙黏素表达、透射电镜观察结肠上皮组织超微结构；结合16S rRNA测序解析肠道菌群的组成和结构特征。**结果**：与模型对照组比较，LCBLE治疗组可降低核心体温［分别为（43.21±0.33）℃和（42.03±0.43）℃，$P<0.01$］、缓解体重下降［分别为（286.68±12.61）g和（307.76±11.29）g，$P<0.05$］、提高存活率（分别为55.6%和77.8%，$P<0.05$）；LCBLE治疗组血清炎症因子（肿瘤坏死因子α、IL-6、IL-1β）水平降低（均$P<0.01$），肠道屏障功能障碍相关指标*D*-乳酸、I-FABP、内毒素水平亦降低（均$P<0.05$），各肠段组织病理损伤减轻、评分下降（均$P<0.01$），同时恢复了结肠组织中紧密连接蛋白（紧密连接蛋白1、闭合蛋白）和上皮钙黏素表达及结肠上皮组织超微结构完整性。16S rRNA测序显示，LCBLE可提高大鼠肠道内双歧杆菌属和乳杆菌属的相对丰度。**结论**：LCBLE预防性给药可改善热射病大鼠热耐受性、减轻全身炎症损伤，其机制可能与维持肠道屏障功能、调节肠道菌群有关。

［关键词］ 热射病；双歧杆菌三联活菌；炎症反应；肠道屏障；肠道菌群；大鼠

收稿日期（Received）：2025-12-13　修改返回日期（Revised）：2026-02-04　接受日期（Accepted）：2026-05-29　网络预发表日期（Online）：2026-07-02

基金项目（Funding）：江西省教育厅科学技术研究项目（GJJ2201458）；江西省卫生健康委科技计划（202410346）；赣州市科技计划项目（GZ2023ZSF132）

第一作者（First author）：谢江波，主治医师，主要从事热射病肠道损伤机制研究；E-mail：1030302544@qq.com；ORCID：0000-0002-6950-8481

通信作者（Corresponding author）：温燕华，主治医师，主要从事热射病肠道损伤机制研究；E-mail：1210697387@qq.com；ORCID：0009-0008-1945-6880

［中图分类号］ R594.1 ［文献标志码］ A

Mechanisms of live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* preparation in improving heat tolerance and attenuating systemic inflammatory injury in heat stroke rats

XIE Jiangbo[1], XUE Zhengbiao[1], DING Shuchang[2], WEN Peishan[2], WEN Yanhua[3]
(*1. Department of Critical Care Medicine, First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China; 2. First Clinical Medical College of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China; 3. Department of Blood Transfusion, First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China*)
Corresponding author: WEN Yanhua, E-mail: 1210697387@qq.com, ORCID: 0009-0008-1945-6880

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the ameliorative effects of live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* (LCBLE) preparation on heat tolerance and systemic inflammatory injury in rats with heat stroke, and to explore its underlying mechanisms. **Methods**: Rats were randomly divided into blank control, LCBLE control, model control, and LCBLE treatment groups. Rats in the LCBLE control and LCBLE treatment groups were administered LCBLE by gavage for 7 consecutive days prior to heat stroke modeling, while those in the blank control and model control groups received an equal volume of physiological saline. On day 8, heat stroke was induced in the model control and LCBLE treatment groups. Core body temperature, body weight and survival rate were monitored. Serum levels of inflammatory factors and intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay; *D*-lactate levels were detected by lactate colorimetry; endotoxin levels were measured by limulus amebocyte lysate test; histopathological morphology of intestinal tissues was observed by hematoxylin-eosin staining and scored; tight junction proteins and E-cadherin in colonic tissues were localized by immunofluorescence staining; colonic epithelial ultrastructure was observed by transmission electron microscope; and the composition and structural characteristics of the intestinal flora were analyzed by 16S rRNA sequencing. **Results**: Compared with the model control group, LCBLE treatment significantly reduced peak core body temperature [(43.21±0.33) ℃ *vs.* (42.03±0.43) ℃, $P<0.01$], attenuated weight loss [(286.68±12.61) g *vs.* (307.76±11.29) g, $P<0.05$], and improved survival rate (55.6% *vs.* 77.8%, $P<0.05$). Furthermore, serum levels of tumor necrosis factor-α, IL-6, and IL-1β were significantly reduced in the LCBLE treatment group (all $P<0.01$); indicators of intestinal barrier dysfunction, including *D*-lactate, I-FABP, and endotoxin, were also significantly decreased (all $P<0.05$); histopathological injury in various intestinal segments was alleviated, with reduced injury scores (all $P<0.01$), and the expression of tight junction proteins (zonula occludens protein 1, occludin), and E-cadherin as well as the ultrastructural integrity of colonic epithelium were restored. 16S rRNA sequencing revealed that LCBLE significantly increased the relative abundances of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the gut. **Conclusion**: Prophylactic administration of LCBLE improves

heat tolerance and alleviates systemic inflammatory injury in heat stroke rats, likely through maintaining intestinal barrier integrity and regulating gut microbiota.

[**Key words**] Heat stroke; Live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*; Inflammatory reaction; Intestinal barrier; Intestinal flora; Rats

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(7): 602-612.]

[**缩略语**] 双歧杆菌三联活菌(live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*, LCBLE);核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB);紧密连接蛋白1(zonula occludens protein 1, ZO-1);增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL);肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α, TNF-α);酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA);肠型脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid-binding protein, I-FABP);二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA);核糖体核糖核酸(ribosomal ribonucleic acid, rRNA);聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR);苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE染色);4′,6-二脒基-2-苯基吲哚(4′,6-diamidino-2-phenylindole, DAPI);运算分类单元(operational taxonomic unit, OTU);主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA);非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)

热射病是在高温高湿环境下机体热平衡调节机制失衡引发的急性重症疾病,常伴随系统性炎症反应综合征,具体表现为促炎性细胞因子风暴、多器官功能障碍甚至衰竭,严重威胁生命健康[1-2]。近年来研究表明,肠道作为人体最大的免疫器官和细菌储存库,在热射病进程中并非被动受累,而是通过"肠-体轴"成为启动和放大全身炎症反应的关键枢纽[3]。正常情况下,肠道菌群通过与宿主的共生关系维持肠道屏障完整性并调节免疫功能;当机体遭遇热射病时,肠黏膜屏障会因缺血-再灌注损伤、氧化应激等因素遭到破坏,导致肠道菌群易位入血,肠道微生物网络结构紊乱,表现为优势菌属丰度下降,条件致病菌过度增殖,进而激活全身免疫系统,诱发或加重系统性炎症反应综合征[4-7]。因此,修复受损的肠道屏障功能、重塑失衡的肠道微生物生态,可能成为提升机体热耐受性、减轻热射病全身炎症损伤的干预方向。

LCBLE作为临床一线微生态调节剂,可通过竞争性排斥、产生抗菌物质、调节黏液分泌等多重机制改善肠道屏障功能,并通过调节Th1与Th2免疫平衡、抑制NF-κB信号通路等途径减轻局部及全身炎症反应[8]。本研究以肠道屏障功能和肠道菌群为切入点,探究LCBLE对热射病大鼠热耐受性及全身炎症损伤的改善作用,并阐明其潜在作用机制,以期为热射病的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂和仪器

7~8周龄成年雄性SD大鼠(体重250~280 g)购自中国江苏华创信诺医药科技有限公司,饲养于赣南医科大学无特定病原体级动物实验中心,环境条件为温度(22±2)℃、湿度(50±5)%、12 h昼夜循环,大鼠自由摄食、饮水。

双歧杆菌三联活菌散(批号:22220250904)为中国上海上药信谊药厂有限公司产品;上皮钙黏素抗体(CY1155)、闭合蛋白抗体(CY5997)为中国上海埃必威生物技术有限公司产品;重组Anti-ZO-1抗体[HL1185](ab307799)为英国Abcam公司产品;Alexa Fluor® 488、594荧光二抗(712-545-153、712-585-153)为美国Jackson ImmunoResearch公司产品;飞敏™型ECL发光液(SB-WB004)为中国上海圣尔生物科技有限公司产品;IL-6、IL-1β、TNF-α ELISA试剂盒(EK0412、EK0393、EK0526)均为中国武汉博士德生物工程有限公司产品;I-FABP检测试剂盒(HP-E10867-48T)为中国上海赫湃生物科技有限公司产品;*D*-乳酸检测试剂盒(S0204S)为中国上海碧云天生物技术有限公司产品;内毒素鲎试验检测试

剂盒（50-650H）为美国Lonza公司产品；BCA蛋白浓度测定试剂盒（PC0020）为中国北京索莱宝科技有限公司产品；粪便基因组DNA提取试剂盒（QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit，51604）为德国Qiagen公司产品；RNA提取试剂盒（ReliaPrep™ RNA Miniprep System，Z6014）、逆转录试剂盒（GoScript™ Reverse Transcriptase System，A5000）、PCR预混液（GoTaq® Green Master Mix，M7122）均为美国Promega公司产品；Triton X-100（T8787）、牛血清白蛋白（A2153）均为美国Sigma-Aldrich公司产品。16S rRNA V3~V4区扩增引物由中国武汉塞维尔生物科技有限公司合成。

小型恒温恒湿试验箱（THB-80PF）为中国广东皓天检测仪器有限公司产品；MC-341电子体温计为欧姆龙（大连）有限公司产品；Mini-PROTEAN® Tetra电泳槽、CFX96 Touch荧光定量PCR仪为美国Bio-Rad公司产品；BioTek Synergy H1多功能微孔板检测仪为美国Agilent公司产品；BX53光学显微镜、Leica DMi8荧光显微镜、JEM-1400 Plus透射电镜、Gatan Orius SC200 CCD相机分别为日本奥林巴斯、德国Leica、日本电子株式会社、美国Gatan公司产品；NanoDrop 2000微量分光光度计为美国Thermo Fisher Scientific公司产品；Illumina MiSeq高通量测序平台为美国Illumina公司产品。

1.2 动物分组及处理

采用随机数字表法将大鼠分为空白对照组（n=22）、LCBLE对照组（n=22）、模型对照组（n=36）和LCBLE治疗组（n=36）。LCBLE对照组和LCBLE治疗组于热射病造模前连续每日灌胃两次LCBLE，每次将1 g LCBLE散剂溶于2 mL生理盐水中混匀后灌胃；空白对照组和模型对照组给予等体积生理盐水，期间每日称量体重。第8天参照文献[9]中的方法进行热射病造模，模型对照组和LCBLE治疗组置于人工气候舱，禁食禁水，温度（40±1）℃、湿度（55±5）%，每10分钟用数字体温计测量肛温，待肛温达42.7 ℃（热射病标志）后继续置于人工气候舱中60 min，随后移至室温（22±2）℃环境并恢复摄食、饮水。

1.3 标本采集和保存

造模后3 h，采用颈椎脱臼法处死大鼠。心脏穿刺采血，1000×g离心15 min，血清于－80 ℃保存备用；迅速取空肠、回肠、盲肠及结肠组织，置于4%多聚甲醛中固定用于病理观察；切取1 mm^{3}结肠组织块，经2.5%戊二醛于4 ℃固定以备透射电镜观察超微结构；采集结肠粪便置于无菌冻存管，液氮速冻后于－80 ℃保存。

1.4 ELISA法检测血清炎症因子和I-FABP

血清IL-6、IL-1β、TNF-α和I-FABP水平均采用相应ELISA试剂盒测定，严格按照试剂盒说明书操作，并使用BioTek Synergy H1多功能微孔板检测仪于450 nm波长处测定吸光度值。

1.5 乳酸比色法检测*D*-乳酸和鲎试验法检测内毒素

采用乳酸比色法，按照试剂盒说明书操作检测血清*D*-乳酸，于波长530 nm处测定吸光度值并根据标准曲线计算浓度；采用鲎试验法依照试剂盒说明书操作流程定量检测内毒素水平。

1.6 HE染色法观察肠道组织病理损伤形态并评分

肠道组织经多聚甲醛固定后，梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋，制成厚度为3~5 μm切片；行HE染色并封片，于显微镜下观察，全景扫描仪采集图像，并采用CaseViewer软件浏览和分析图像。依据炎症细胞浸润、组织结构损伤、水肿三项指标对空肠、回肠、盲肠和结肠组织病理损伤进行评分，每项0~3分，总分0~9分，分值越高代表损伤越重。

1.7 免疫荧光染色法检测结肠组织中紧密连接蛋白和上皮钙黏素表达

将接种于盖玻片上的细胞经4%多聚甲醛固定15 min、0.1% Triton X-100通透5 min后滴加ZO-1、闭合蛋白、上皮钙黏素一抗，4 ℃孵育过夜；用磷酸盐缓冲液洗涤三次后加二抗避光室温孵育1 h；DAPI染核5 min，封片后用Leica DMi8荧光显微镜采集图像。

1.8 透射电镜观察结肠上皮组织超微结构

结肠组织标本置于2.5%戊二醛中以4 ℃固定24 h，再置于1%锇酸中以室温固定1 h，梯度乙醇脱水，Epon 812树脂包埋，制成50~70 nm超薄切片；切片经2%醋酸铀–柠檬酸铅双重染色后置于Formvar膜铜网，用JEM-1400 Plus透射电镜观察，Gatan Orius SC200 CCD相机采集图像。

1.9 16S rRNA高通量测序法分析肠道菌群结构及多样性

采用粪便基因组DNA提取试剂盒提取粪便

微生物总DNA，NanoDrop 2000微量分光光度计检测核酸浓度和纯度；以338F(5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′)/806R(5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′)扩增16S rRNA V3~V4区，单标本设置三次PCR重复，20 μL反应体系含5×FastPfu缓冲液、脱氧核苷三磷酸、上下游引物、FastPfu聚合酶和模板DNA，扩增程序为95 ℃预变性3 min，27个循环(95 ℃ 30 s、55 ℃ 30 s、72 ℃ 45 s)，72 ℃终延伸10 min；同一标本扩增产物混匀纯化、等摩尔混合后于Illumina MiSeq平台行2×300 bp双端测序。原始序列质控拼接后以UPARSE算法按97%相似度聚类OTU，采用UCHIME算法去除嵌合体，依托SILVA 138数据库注释物种；采用QIIME 2(2022.8版)计算Chao1、Shannon、Simpson等α多样性指数，基于Bray-Curtis距离完成PCoA、NMDS β多样性分析，以P<0.05为差异有统计学意义。

1.10 统计学方法

采用GraphPad Prism 10.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较，方差齐时使用单因素方差分析及Tukey检验；方差不齐时则使用Kruskal-Wallis检验及Mann-Whitney U检验。生存分析采用Log-rank检验并绘制Kaplan-Meier曲线。P<0.05为差异有统计学意义。

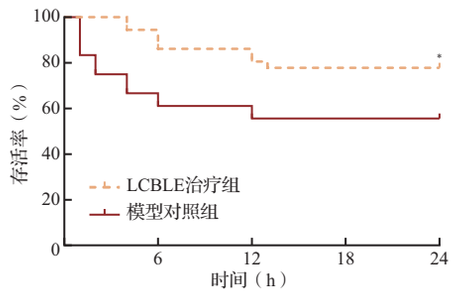
2 结 果

2.1 LCBLE改善模型鼠生存状态

热射病造模前，四组大鼠体重均呈稳步上升趋势。热射病造模后，与模型对照组比较，LCBLE治疗组体重显著增加[分别为(286.68±12.61)g和(307.76±11.29)g，P<0.05]，且核心体温显著降低[分别为(43.21±0.33)℃和(42.03±0.43)℃，P<0.01)]。造模24 h，LCBLE治疗组存活率达77.8%(28/36)，显著高于模型对照组的55.6%(20/36)，见图1。结果提示，LCBLE可提升大鼠的热耐受性，降低核心体温、缓解造模后体重下降，并提高大鼠存活率。

2.2 LCBLE降低模型鼠血清炎症因子水平

与空白对照组、LCBLE对照组比较，模型对照组血清中TNF-α、IL-6及IL-1β水平均显著升高(均P<0.01)；而LCBLE治疗组上述炎症因子水平较模型对照组显著降低(均P<0.01)。见表1。结果提示，热射病可显著诱导大鼠全身炎症反应，而LCBLE治疗能有效抑制炎症因子释放，发挥抗炎效应。



与模型对照组比较，*P<0.05. LCBLE：双歧杆菌三联活菌.

图1 热射病造模后24 h模型对照组和LCBLE治疗组Kaplan-Meier生存曲线(n=36)

Figure 1 Twenty-four-hour Kaplan-Meier survival curves of the model control group and LCBLE treatment group after heat stroke induction (n=36)

表1 各组血清炎症因子水平比较

Table 1 Serum levels of inflammatory factors in each group (pg/mL，$\bar{x}\pm s$，n=8)

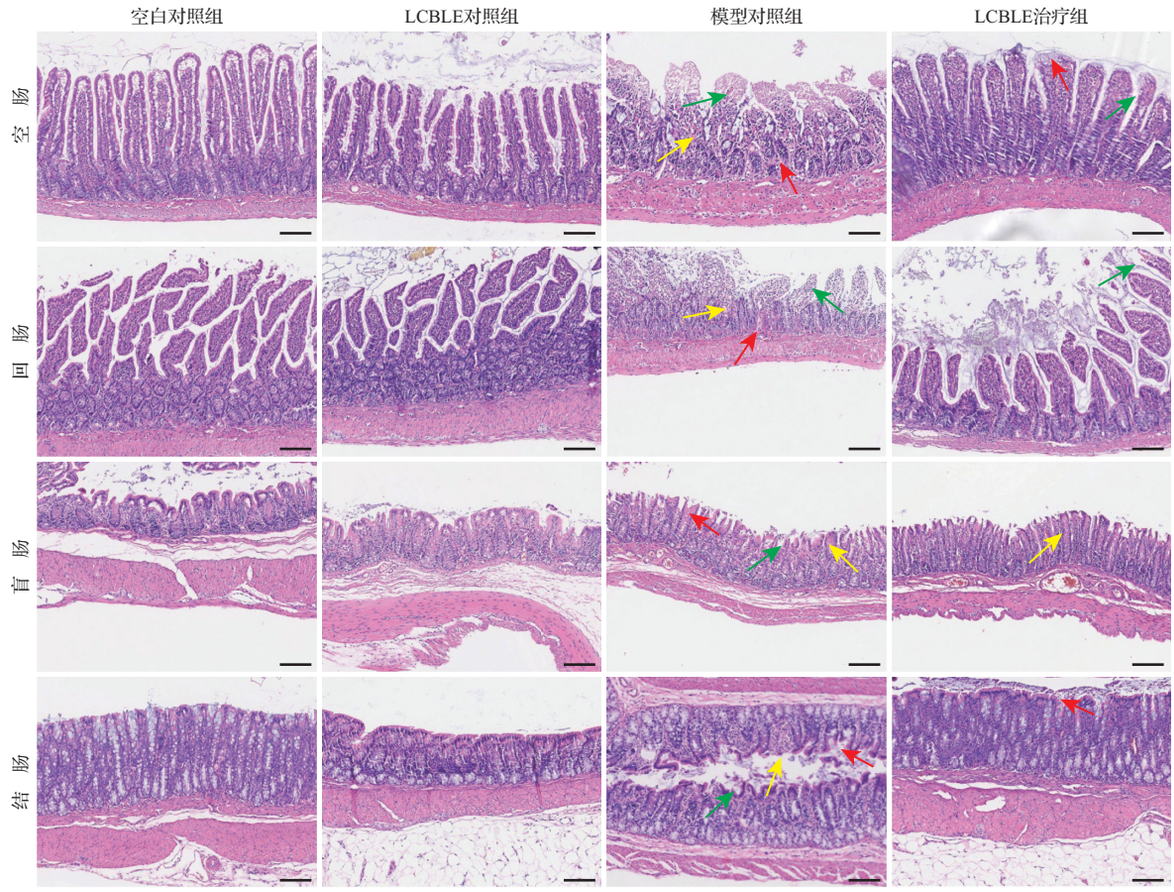
组 别	TNF-α	IL-6	IL-1β
空白对照组	1.48±0.19	4.12±1.92	6.33±2.47
LCBLE对照组	1.30±0.35	3.21±1.24	7.59±1.65
模型对照组	3.25±0.45**##	42.80±6.93**##	34.48±3.89**##
LCBLE治疗组	1.92±0.27△△	19.88±2.14△△	24.97±1.16△△

与空白对照组比较，**P<0.01；与LCBLE对照组比较，##P<0.01；与模型对照组比较，△△P<0.01. LCBLE：双歧杆菌三联活菌；TNF-α：肿瘤坏死因子α.

2.3 LCBLE减轻模型鼠肠道损伤并增强肠道屏障功能

HE染色及病理损伤评分显示，空白对照组和LCBLE对照组空肠、回肠、盲肠、结肠的绒毛、黏膜和腺体结构完整，无明显病理改变；模型对照组各肠段均有明显损伤：空肠绒毛断裂、坏死，回肠绒毛倒伏、破损，盲肠黏膜脱落、水肿，结肠黏膜破损、腺体紊乱；LCBLE治疗组各肠段损伤较模型对照组减轻，绒毛、黏膜和腺体结构相对完整，各肠段组织病理损伤评分均小于模型对照组(均P<0.01)。见图2和表2。

免疫荧光染色结果显示，空白对照组和LCBLE对照组结肠组织中紧密连接蛋白(ZO-1、闭合蛋白)和上皮钙黏素荧光信号强、分布连续；模型对照组中上述三种蛋白质的荧光信号明显减弱、分布紊乱；LCBLE治疗组上述三种蛋白质



红、绿、黄色箭头分别代表炎症、坏死、充血或出血病灶. 空白对照组和LCBLE对照组空肠、回肠、盲肠、结肠的绒毛、黏膜和腺体结构完整，无明显炎症、坏死、充血或出血等病变；模型对照组各肠段黏膜破损，伴大量炎症细胞浸润、上皮坏死、充血或出血；LCBLE治疗组肠道病理损伤显著减轻，绒毛、黏膜和腺体结构明显修复. 标尺=200 μm. LCBLE：双歧杆菌三联活菌.

图2 各组肠道组织苏木精–伊红染色结果

Figure 2 Hematoxylin and eosin staining results of rat intestinal tissues in each group

表2 各组肠道组织病理损伤评分比较

Table 2 Comparison of intestinal tissue pathological injury scores among groups

（$\bar{x}\pm s$，n=6）

组　别	空　肠	回　肠	盲　肠	结　肠
空白对照组	0.67±0.52	0.50±0.55	0.83±0.41	0.67±0.52
LCBLE对照组	0.83±0.41	0.67±0.52	1.01±0.63	0.83±0.41
模型对照组	8.50±1.05$^{**\#\#}$	9.50±1.05$^{**\#\#}$	8.83±0.75$^{**\#\#}$	9.83±0.75$^{**\#\#}$
LCBLE治疗组	1.83±0.75$^{\triangle\triangle}$	1.33±0.82$^{\triangle\triangle}$	3.01±0.61$^{\triangle\triangle}$	2.02±0.63$^{\triangle\triangle}$

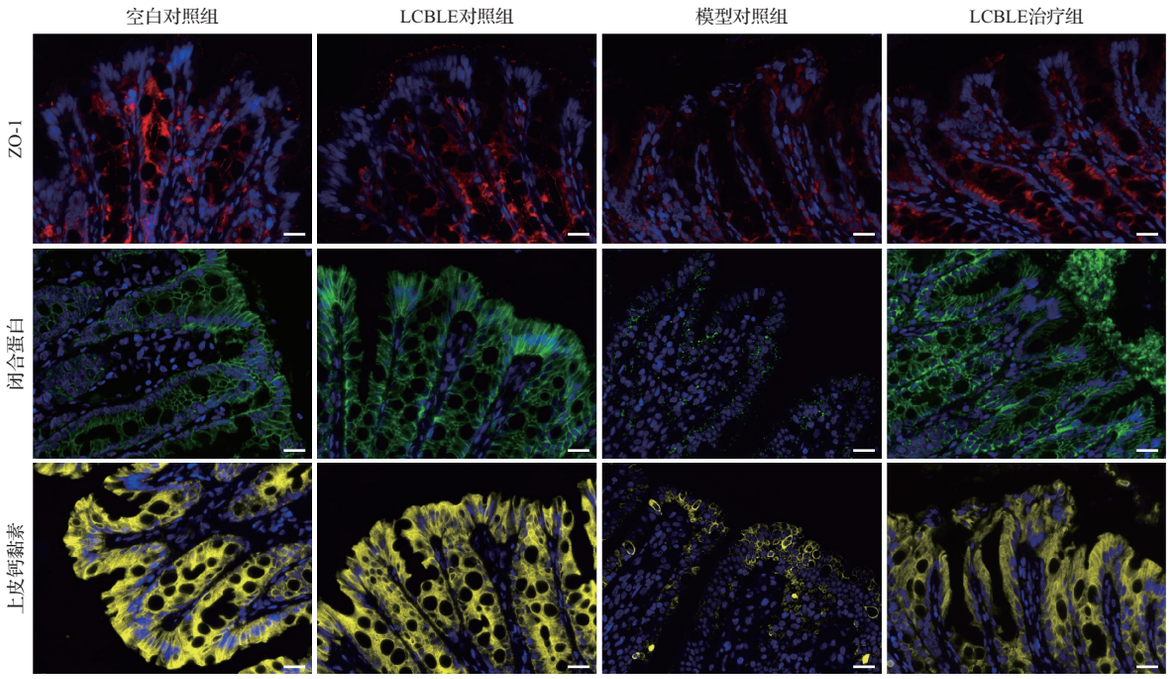
与空白对照组比较，$^{**}P$<0.01；与LCBLE对照组比较，$^{\#\#}P$<0.01；与模型对照组比较，$^{\triangle\triangle}P$<0.01. LCBLE：双歧杆菌三联活菌.

的荧光信号较模型对照组明显增强，分布连续性改善。见图3。

透射电镜观察结肠上皮组织超微结构显示，空白对照组和LCBLE对照组结肠上皮组织紧密连接结构完整、微绒毛排列整齐；模型对照组紧密连接结构松散、间隙增宽，微绒毛倒伏、断裂；与模型对照组比较，LCBLE治疗组紧密连接结构和微绒毛形态均明显恢复，损伤减轻。见图4。

与空白对照组、LCBLE对照组比较，模型对照组血清*D*-乳酸、I-FABP和内毒素水平均显著升高（均P<0.01）；LCBLE治疗组上述指标水平较模型对照组显著降低（均P<0.05）。见表3。

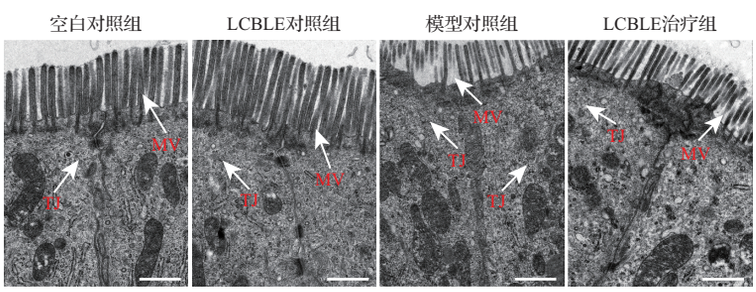
综上，热射病可造成大鼠肠道屏障功能障碍，表现为多段肠黏膜损伤、结肠组织中紧密连接蛋白和上皮钙黏素表达水平下降、结肠上皮组织超微结构破坏及肠道屏障功能障碍相关指标升高；LCBLE可有效修复肠道结构损伤、维持肠道屏障完整性，从结构及功能层面改善热射病所致的肠道屏障损伤。



空白对照组和LCBLE对照组ZO-1(红色)、闭合蛋白(绿色)、上皮钙黏素(黄色)荧光分布连续、荧光信号强且丰富;模型对照组上述三种蛋白质的荧光信号明显减弱,分布紊乱;LCBLE治疗组上述三种蛋白质的荧光信号较模型对照组明显增强,荧光分布连续性得到显著改善. 标尺=20 μm. LCBLE:双歧杆菌三联活菌;ZO-1:紧密连接蛋白1.

图3 各组结肠组织中紧密连接蛋白和上皮钙黏素免疫荧光染色结果

Figure 3 Immunofluorescence staining of tight junction proteins and E-cadherin in colonic tissue in each group



空白对照组和LCBLE对照组结肠上皮组织微绒毛排列整齐,紧密连接结构完整;模型对照组微绒毛稀疏、倒伏,紧密连接结构松散、间隙增宽,超微结构损伤明显;LCBLE治疗组微绒毛形态和紧密连接结构得到明显修复. 标尺=1.0 μm. LCBLE:双歧杆菌三联活菌;MV:微绒毛;TJ:紧密连接.

图4 各组结肠上皮组织超微结构

Figure 4 Ultrastructure of colonic epithelial tissue in each group

2.4 LCBLE调节模型鼠肠道菌群结构

对四组大鼠20份粪便标本行16S rRNA测序共获得1 533 193条测序片段(Reads),质控拼接后获得1 424 048条Clean Reads(单标本≥42 279,平均71 202)。基于OTU水平的维恩图显示四组共享13 578个OTU,其中空白对照组、LCBLE对照组、模型对照组和LCBLE治疗组分别独有2616、482、1428、396个OTU。肠道菌群稀释曲线证实测序数据充足。α多样性分析显示,LCBLE对照组、模型对照组的Chao1指数和Simpson指数均显著低于空白对照组(均$P<0.05$)。PCoA和NMDS分析显示,空白对照组与其余三组菌群结构明显分离($R=0.2760$, $P=0.001$),且LCBLE治疗组与LCBLE对照组菌群结构部分重叠。见附图1。

门水平优势菌为厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和脱硫菌门(*Desulfobacterota*)等,属水平优势菌为双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)和拟杆菌属(*Bacteroides*)等。与空白对照组比较,LCBLE对照组中拟杆菌门和变形菌门相对丰度升高,厚壁菌门相对丰度降低;双歧杆菌属和乳杆菌属相对丰度明显增加。LCBLE治疗组与LCBLE对照组在肠道菌群结构上未见明显差异。然而,模型对照组在门水平上的变化趋势与LCBLE对照组恰好相反,且脱硫菌门相对丰度显

表3 各组肠道屏障功能障碍相关指标比较

Table 3 Intestinal barrier dysfunction indicators in each group

（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组 别	*D*-乳酸（mmol/L）	I-FABP（pg/mL）	内毒素（EU/mL）
空白对照组	0.203±0.024	192±36	0.105±0.012
LCBLE对照组	0.206±0.041	236±50	0.116±0.025
模型对照组	0.712±0.093$^{**\#\#}$	754±194$^{**\#\#}$	0.816±0.084$^{**\#\#}$
LCBLE治疗组	0.307±0.036$^{\triangle\triangle}$	375±73$^{\triangle}$	0.563±0.095$^{\triangle\triangle}$

与空白对照组比较，$^{**}P$<0.01；与LCBLE对照组比较，$^{\#\#}P$<0.01；与模型对照组比较，$^{\triangle}P$<0.05，$^{\triangle\triangle}P$<0.01. LCBLE：双歧杆菌三联活菌；I-FABP：肠型脂肪酸结合蛋白.

著升高。见附图2。

综上，热射病造模可显著削弱大鼠肠道菌群α多样性，并引发菌群结构紊乱；而LCBLE预防性给药虽未增强α多样性，但可提升大鼠肠道内双歧杆菌属、乳杆菌属等益生菌的相对丰度，对肠道菌群结构具有一定的调节作用。

3 讨 论

在全球气候变暖背景下，极端高温天气频发，热浪导致的热射病发病率和病死率呈显著上升趋势，已成为威胁公共健康的重要问题[10-11]。热射病的病理过程复杂且进展迅速，严重时可导致多器官功能衰竭甚至死亡[12]。其病理生理学机制主要涉及两条途径：一是高温直接破坏细胞的结构和功能，二是外周血管扩张引发内脏缺血缺氧，两者共同导致组织和器官损伤[11]。肠道是人体主要的消化和免疫器官，其黏膜脆弱，且高代谢特性使其对缺血缺氧敏感，从而成为热射病最早累及的靶器官[13]。肠道屏障功能障碍在热射病病理进程中扮演重要角色，可能是推动疾病发展的核心“驱动者”[14]。当发生热射病时，肠道机械屏障首当其冲受损，肠上皮细胞凋亡、坏死，紧密连接蛋白结构破坏、表达降低，导致肠道屏障通透性增加，细菌、内毒素进入血液循环，引发级联炎症反应[4]。

目前，针对热射病的防治措施仍存在诸多局限：物理降温时效性不足，药物干预因靶点单一难以阻断多器官损伤进程，热适应训练在老年、慢性病等特殊人群中实施难度大[15]。因此，探索安全有效的防治策略具有重要的临床意义和社会价值。益生菌可通过调节肠道菌群、增强肠道屏障功能发挥保护效应，多项研究证实其能改善肠道菌群失衡、减轻肠道通透性、缓解热射病损害[16-17]。LCBLE是一种复方益生菌制剂，主要成分包括长双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和粪肠球菌等，具有良好安全性，已在临床上广泛应用于肠道菌群失衡相关疾病[8]。本研究显示，LCBLE预防性给药可减轻热射病大鼠肠道损伤及全身炎症反应，降低核心体温和死亡率，有效提升热射病大鼠热耐受性，同时显著提高双歧杆菌属、乳杆菌属等有益菌的相对丰度，为热射病预防提供了新思路。

肠道屏障由机械、化学、免疫和生物屏障构成，其中机械屏障的紧密连接是阻止有害物质移位的关键。本文资料显示，热射病模型鼠肠道黏膜损伤标志物（*D*-乳酸、I-FABP）水平升高，肠道屏障通透性指标内毒素水平亦升高，证实热射病可导致肠道屏障严重破坏，这与既往研究中关于肠道屏障在热射病损伤中起重要作用的认知一致[18-19]。而且，热射病模型鼠结肠组织中ZO-1、闭合蛋白和上皮钙黏素表达水平显著降低，出现微绒毛断裂、紧密连接结构松散等破坏现象，而LCBLE预防性给药可上调上述蛋白质表达并减轻肠道结构损伤，这与既往研究中关于益生菌可通过调节紧密连接蛋白改善肠道屏障损伤的作用类似[4]。综上，本研究明确了复方益生菌制剂LCBLE对紧密连接蛋白的调控效应，通过维持紧密连接的稳定性以减少细菌和内毒素移位，从源头阻断热射病引发的级联损伤，可为LCBLE保护肠道机械屏障的分子机制提供直接证据。

肠道屏障破坏引发的细菌和内毒素移位是热射病诱发系统性炎症反应综合征的重要原因[14]，而过度炎症反应又会进一步降低机体热耐受、加重脏器损伤。本文资料中，热射病模型鼠血清促炎性细胞因子（TNF-α、IL-6、IL-1β）水平显著升高，LCBLE预防性给药可显著下调促炎性细胞因子表达，有效缓解全身炎症损伤。该保护作用可能源于双重机制：一方面，LCBLE通过保护肠道屏障，减少细菌和内毒素的移位，从而降低炎症反应的触发；另一方面，LCBLE可能直接调节免疫功能，如长双歧杆菌可通过激活肠黏膜免疫细胞（如巨噬细胞、树突状细胞等）促进抗炎细胞因子（如IL-10）分泌[20]，而嗜酸乳杆菌可能通过抑制NF-κB信号通路减少促炎

性细胞因子产生,形成肠道屏障保护–免疫调节的协同效应[8]。

肠道菌群作为肠道生物屏障的重要组成部分,与宿主健康密切相关,菌群结构稳定对维持肠道屏障功能、调节免疫反应等具有重要意义[21]。本文资料显示,热射病可显著扰乱大鼠肠道菌群结构:厚壁菌门相对丰度升高、拟杆菌门相对丰度降低,有害菌如脱硫菌门相对丰度显著升高。这种失衡可能通过多种途径加剧损伤,例如厚壁菌门和拟杆菌门比例失衡可能导致肠道代谢产物(如短链脂肪酸)变化,影响肠上皮细胞的营养供应和屏障功能[22-23]。脱硫菌门作为硫酸盐还原菌,其增加可能与内毒素产生增多相关,进而加重全身炎症反应[24],其代谢产物还可能对肠黏膜产生直接毒性作用,干扰肠道菌群代谢平衡,间接影响肠道稳态[25]。LCBLE预防性给药可有效抵抗热射病导致的菌群结构紊乱,使拟杆菌门相对丰度增加,厚壁菌门相对丰度降低,趋近LCBLE对照组菌群结构,同时显著提升肠道中双歧杆菌属和乳杆菌属等有益菌相对丰度。双歧杆菌属作为肠道核心有益菌,可通过分解膳食纤维产生短链脂肪酸(如乙酸、丙酸、丁酸等),为肠道上皮细胞提供能量底物,维持其正常生理功能,还可通过调节肠道紧密连接蛋白表达增强肠道屏障完整性,减少内毒素移位,抑制促炎性细胞因子分泌,减轻肠道局部炎症反应[26];乳杆菌属可通过产生乳酸、细菌素等物质抑制有害菌生长繁殖,调节肠道微生态平衡,增强肠道屏障功能[27]。值得注意的是,外源性补充LCBLE可显著提升肠道乳杆菌的基础丰度,在热射病应激下乳杆菌的富集效应进一步增强。这一现象提示热射病可能作为应激信号激活LCBLE中乳杆菌属的增殖和定植能力——当肠道菌群因热射病面临失衡风险时,乳杆菌属通过进一步提升相对丰度,更高效地维系肠道微生态稳态[28]。本研究结果提示LCBLE可能通过肠道屏障保护–菌群优化–免疫调节协同机制预防热射病,这一应激响应式保护模式为益生菌在极端环境下的作用机制提供了新视角。此外,本文资料显示LCBLE预防性给药并未提高大鼠肠道菌群的α多样性,其Chao1和Simpson指数甚至可能低于空白对照组,这与部分报道(如Sergeev等[29]研究提示益生菌可增加菌群多样性)存在差异。分析原因可能是LCBLE作为复方制剂,菌株间的协同作用可能优先促进特定有益菌的定植,实现精准调节而非单纯增加多样性,这种模式或许更适应热射病条件下的肠道微生态需求。这也提示,肠道菌群的丰富度和多样性并非评价肠道微生态稳态的唯一标准,菌群结构的稳定性及有益菌的相对丰度可能更为关键;在热射病条件下,机体对肠道菌群的生态需求可能发生改变,LCBLE通过选择性促进有益菌增殖,协助菌群适应极端环境,这可能是其发挥保护作用的重要机制之一。

与既往地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)单一益生菌研究比较[30],本文资料中LCBLE对热射病大鼠的保护作用凸显出复方益生菌的协同优势。Li等[9]研究证实,地衣芽孢杆菌虽可通过维持肠道屏障功能及调节菌群减轻热射病大鼠脏器损伤,但单一菌株的作用靶点和调控范围相对有限。相比之下,含长双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌的LCBLE复方制剂通过多靶点协同实现更优保护效果:一是屏障保护作用更强,可同步上调ZO-1、闭合蛋白、上皮钙黏素这三种关键蛋白质的表达;二是菌群调节谱更广,不仅优化厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度,还能抑制脱硫菌门等有害菌增殖,同时富集双歧杆菌属和乳杆菌属两类有益菌,构建更稳定的肠道微生态屏障;三是抗炎作用更全面,可同步下调TNF-α、IL-6、IL-1β等促炎性细胞因子的表达。这种优势源于菌株间的互补机制:双歧杆菌强化黏膜免疫屏障,乳杆菌产酸抑制致病菌,肠球菌竞争性定植于黏膜位点,三者共同构建物理–化学–免疫三重屏障,相较于单一菌株单点突破模式,更能全面应对热射病引发的肠道损伤及菌群紊乱。

本研究存在以下局限:目前仅明确LCBLE可调控菌群结构,尚未进一步分析菌群代谢产物的作用;虽证实LCBLE可上调紧密连接蛋白和上皮钙黏素表达,但介导这一效应的信号通路尚未深入研究。

综上所述,LCBLE预防性给药可能通过维持肠道屏障功能完整性及调控肠道菌群结构,有效提升热射病大鼠热耐受性,并显著减轻全身炎症损伤。本研究阐明了LCBLE基于“肠道菌群–肠道屏障–全身炎症”轴干预热射病的作用机制,为热射病的临床预防及辅助治疗提供了理论依据和实验证据。

本文附加文件见电子版。

志谢 本研究得到江西省教育厅科学技术研究项目（GJJ2201458）、江西省卫生健康委科技计划（202410346）和赣州市科技计划项目（GZ2023ZSF132）支持

Acknowledgements This study was supported by Science and Technology Research Project of Jiangxi Education Department (GJJ2201458), Science and Technology Project of Health Commission of Jiangxi Province (202410346), and Science and Technology Program of Ganzhou City (GZ2023ZSF132)

作者贡献 谢江波、薛正彪、丁舒畅、温佩珊和温燕华参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释，起草研究论文或修改重要智力性内容.所有作者均已阅读并认可最终稿件，并对数据的完整性和安全性负责.具体见电子版

Author Contributions XIE Jiangbo, XUE Zhengbiao, DING Shuchang, WEN Peishan and WEN Yanhua participated in the conception and design of the study, acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. The authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者（E-mail：1210697387@qq.com）处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at 1210697387@qq.com

医学伦理 本研究遵循国家和赣南医科大学第一附属医院有关实验动物管理和使用的规定，通过赣南医科大学第一附属医院实验动物伦理委员会审查（LLSC-2023031302）

Ethical Approval All applicable national guidelines and First Affiliated Hospital of Gannan Medical University regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Laboratory Animal Ethics Committee of First Affiliated Hospital of Gannan Medical University (LLSC-2023031302)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献（References）

[1] VICEDO-CABRERA A M, SCOVRONICK N, SERA F, et al. The burden of heat-related mortality attributable to recent human-induced climate change[J]. **Nat Clim Chang**, 2021, 11(6): 492-500.

[2] KHAN A, MUBEEN M. Heat stroke in the era of global warming: a call for urgent action[J]. **Ann Glob Health**, 2025, 91(1): 1.

[3] SUN M, LI Q, ZOU Z, et al. The mechanisms behind heatstroke-induced intestinal damage[J]. **Cell Death Discov**, 2024, 10(1): 455.

[4] XIA Z N, ZONG Y, ZHANG Z T, et al. Dexmedetomidine protects against multi-organ dysfunction induced by heatstroke via sustaining the intestinal integrity[J]. **Shock**, 2017, 48(2): 260-269.

[5] SNIPE R M J. Exertional heat stress-induced gastrointestinal perturbations: prevention and management strategies[J]. **Br J Sports Med**, 2019, 53(20): 1312-1313.

[6] MOORE T, GLOBA L, PUSTOVYY O, et al. Oral administration of *Bacillus subtilis* strain BSB3 can prevent heat stress-related adverse effects in rats[J]. **J Appl Microbiol**, 2014, 117(5): 1463-1471.

[7] IBA T, HELMS J, LEVI M, et al. Inflammation, coagulation, and cellular injury in heat-induced shock[J]. **Inflamm Res**, 2023, 72(3): 463-473.

[8] FANG J, YANG Y, XIE W. Chinese expert consensus on the application of live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Enterococcus* powder/capsule in digestive system diseases (2021)[J]. **J Gastroenterol Hepatol**, 2023, 38(7): 1089-1098.

[9] LI L, WANG M, CHEN J, et al. Preventive effects of *Bacillus licheniformis* on heat stroke in rats by sustaining intestinal barrier function and modulating gut microbiota [J]. **Front Microbiol**, 2021, 12: 630841.

[10] HOAG H. How cities can beat the heat[J]. **Nature**, 2015, 524(7566): 402-404.

[11] EPSTEIN Y, YANOVICH R. Heatstroke[J]. **N Engl J Med**, 2019, 380(25): 2449-2459.

[12] BOUCHAMA A, ABUYASSIN B, LEHE C, et al. Classic and exertional heatstroke[J]. **Nat Rev Dis Primers**, 2022, 8(1): 8.

[13] CRAMER M N, GAGNON D, LAITANO O, et al. Human temperature regulation under heat stress in health, disease, and injury[J]. **Physiol Rev**, 2022, 102(4): 1907-1989.

[14] PEIRIS A N, JAROUDI S, NOOR R. Heat stroke[J]. **JAMA**, 2017, 318(24): 2503.

[15] KEITH L, MEEROW S, HONDULA D M, et al. Deploy heat officers, policies and metrics[J]. **Nature**, 2021, 598 (7879): 29-31.

[16] BRON P A, VAN BAARLEN P, KLEEREBEZEM M.

Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa[J]. **Nat Rev Microbiol**, 2011, 10(1): 66-78.

[17] SONG J, XIAO K, KE Y L, et al. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress[J]. **Poult Sci**, 2014, 93(3): 581-588.

[18] PIRES W, VENEROSO C E, WANNER S P, et al. Association between exercise-induced hyperthermia and intestinal permeability: a systematic review[J]. **Sports Med**, 2017, 47(7): 1389-1403.

[19] SCHLADER Z J, DAVIS M S, BOUCHAMA A. Biomarkers of heatstroke-induced organ injury and repair [J]. **Exp Physiol**, 2022, 107(10): 1159-1171.

[20] VATANEN T, ANG Q Y, SIEGWALD L, et al. A distinct clade of *Bifidobacterium longum* in the gut of Bangladeshi children thrives during weaning[J]. **Cell**, 2022, 185(23): 4280-4297.e12.

[21] VAN TREUREN W, DODD D. Microbial contribution to the human metabolome: implications for health and disease[J]. **Annu Rev Pathol**, 2020, 15: 345-369.

[22] FENG Y, HUANG Y, WANG Y, et al. Severe burn injury alters intestinal microbiota composition and impairs intestinal barrier in mice[J]. **Burns Trauma**, 2019, 7: 20.

[23] PARK M, CHOI Y Y, LEE Y, et al. Single radiation exposure induces gut microbiota dysbiosis and decreases short-chain fatty acid metabolism and intestinal barrier integrity in mice[J]. **Front Cell Infect Microbiol**, 2025, 15: 1654976.

[24] LANKELMA J M, VAN VUGHT L A, BELZER C, et al. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study[J]. **Intensive Care Med**, 2017, 43(1): 59-68.

[25] BEAUMONT M, PORTUNE K J, STEUER N, et al. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans[J]. **Am J Clin Nutr**, 2017, 106(4): 1005-1019.

[26] 中华消化杂志编辑委员会. 双歧杆菌三联活菌散/胶囊应用于消化系统疾病的中国专家共识(2021版)[J]. **中华消化杂志**, 2022, 42(4): 224-239.
Editorial Board of *Chinese Journal of Digestion*. Chinese expert consensus on application of live combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* powder/capsule in digestive system diseases (version 2021)[J]. **Chinese Journal of Digestion**, 2022, 42(4): 224-239. (in Chinese)

[27] TANG H, HUANG W, YAO Y F. The metabolites of lactic acid bacteria: classification, biosynthesis and modulation of gut microbiota[J]. **Microb Cell**, 2023, 10(3): 49-62.

[28] MA W, WANG M, CHEN J, et al. Qingshu Yiqi decoction ameliorates exertional heat stroke-induced intestinal barrier injury via NF-κB/MLC pathway and gut microbiota[J]. **Phytomedicine**, 2025, 143: 156723.

[29] SERGEEV I N, ALJUTAILY T, WALTON G, et al. Effects of synbiotic supplement on human gut microbiota, body composition and weight loss in obesity[J]. **Nutrients**, 2020, 12(1): 222.

[30] WONGSAMART R, SOMBOONNA N, CHEIBCHALARD T, et al. Probiotic Bacillus licheniformis DSMZ 28710 improves sow milk microbiota and enhances piglet health outcomes[J]. **Sci Rep**, 2025,15(1): 17.

[本文编辑 余 方 沈 洁]

· 学术动态 ·

可运动脂质分子助力mRNA疫苗高效表达

2026年7月1日,浙江大学药学院赵宇研究员、高建青教授合作成果“Mechanical movements generated by movable lipids break endosomal barriers for enhanced mRNA therapeutics”(DOI: 10.1126/sciadv.aef1695)发表在《科学·进展》(*Science Advances*)。受细胞内分子机器启发,研究人员在脂质纳米颗粒(LNP)的设计中引入可编程机械运动,即LNP进入内涵体后,其内部脂质分子在特定刺激下发生机械运动,进而破坏内涵体膜实现内涵体高效逃逸。研究人员构建了发光二极管(LED)光响应可运动苯基偶氮噻唑(PAT)脂质,并将其掺入辉瑞BNT162b2体系,在程序化LED蓝绿光的刺激下,PAT脂质作为分子转子破坏内涵体膜,提升载体对mRNA的胞质转运效率。在小鼠模型中,皮下注射PAT LNP可使其高效富集体表淋巴结。直接照射淋巴结组织可显著提升mRNA-LNP肿瘤疫苗的抗原特异性免疫激活水平。在临床前实验中,此策略有效抑制了恶性脑胶质瘤复发。该研究为mRNA递送系统的理性设计提供了全新思路。

济南大学李子璐博士、哈尔滨医科大学秦杰博士和中国医学科学院北京协和医院张佳妤硕士研究生为论文第一作者。研究得到浙江大学“新百人计划”项目支持。